

# 1\_2\_ENZYMY

**Enzymy - proteiny** - urychlují biochemické reakce

- 1 molekula přeměněná v nekatalyzované reakci na  $10^6$  až  $10^{14}$  molekul přeměněných při reakci katalyz. enzymem

Mechanismus účinku enzymů spočívá ve snížení aktivační energie pro příslušnou reakci (umožňují průběh metabolických pochodů při relativně nízkých teplotách ( $37^\circ\text{C}$ ) a při pH 6,5-7,5 ve vodném prostředí)

V živočišné buňce je 1000 až 4000 různých enzymů

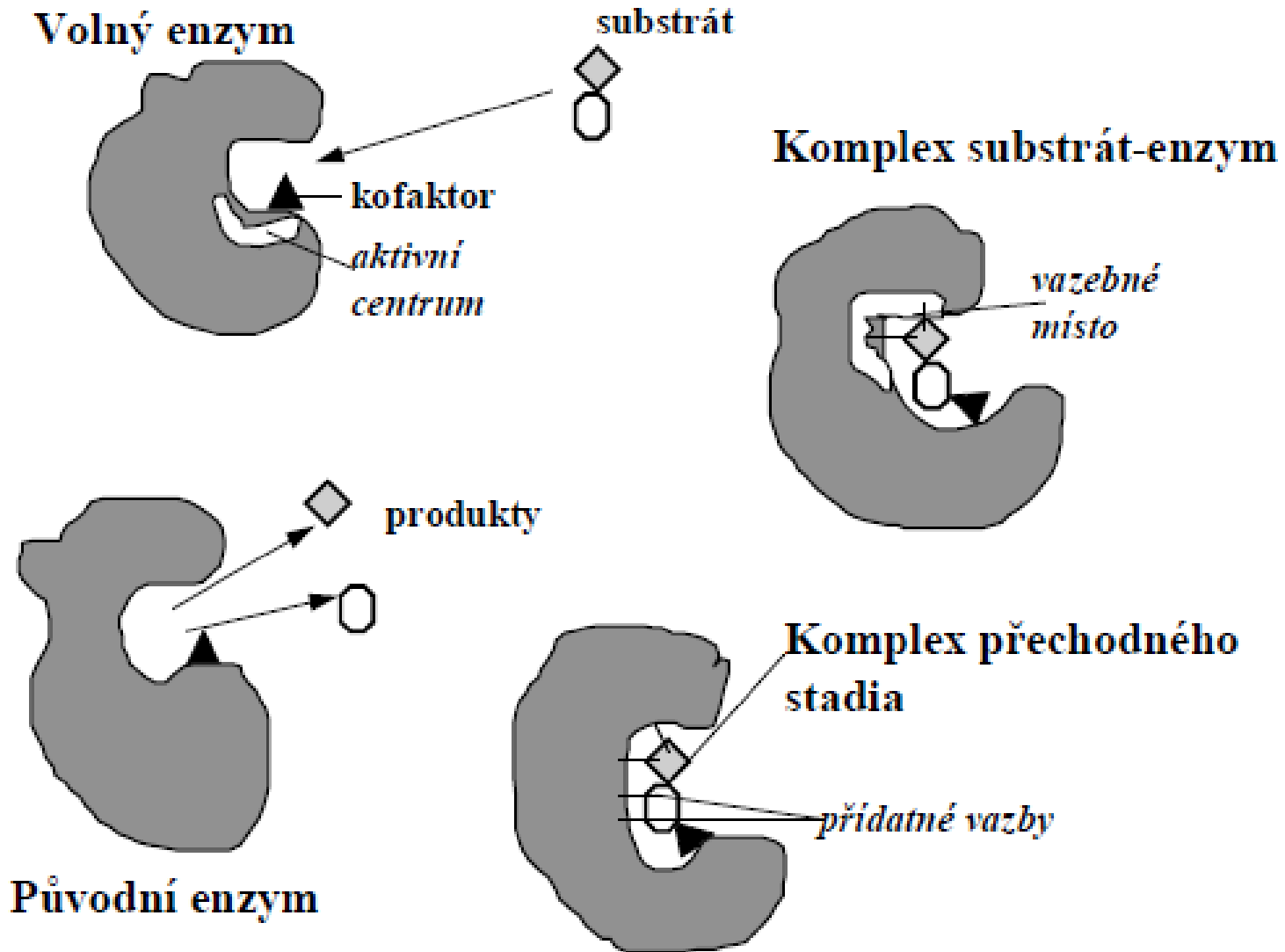
- bílkovinná část - **apoenzym**, nebílkovinná - **koenzym**
- látky vstupující do reakce - **substráty**, látky vznikající - **produkty**
- **Reakce** : substrát se váže na specifické vazebné místo na molekule enzymu (vazebné místo je vklíněno do prohlubně enzymu tzv. aktivní centrum)

# Enzymatická reakce-princip

## Vazba substrát - enzym :

- prostřednictvím **nekovalentní iontové vazby**
- **vodíkových a hydrofobních můstků**
- **van der Waalsových interakcí**
  
- Na **funkční skupiny aminokyselinových zbytků** akt.v.místa enzymu jsou napojeny **koenzymy, příp.atomy kovu** (metaloenzymy), účastní se katalyzované reakce
  
- Funkční skupiny **aktivují substrát a snižují energii**, která je potřebná pro vytvoření vysokoenergetického intermediárního stadia

# Vazba enzym-substrát



# Patobiochemie regulací enzymové aktivity

## Inhibice enzymové aktivity

Účinek četných léků nebo toxinů spočívá ve schopnosti **inhibovat enzym**.

**Nejsilnější inhibitory**- váží se **kovalentně** k funkčním skupinám aktivního místa, příp. jako **analogy substrátové molekuly** - tvoří s enzymem komplexy

## Rychlost enzymové reakce:

a) koncentrací **substrátu, produktu**

b) koncentrací **aktivátorů**, koncentrací **inhibitorů**

Vztah mezi rychlostí enzymové reakce a koncentrací substrátu - dán rovnicí podle Michaelise a Mentenové



**Produkty** aj. fyziologické inhibitory mohou soutěžit se substrátem o vazbu v aktivním centru enzymu a tak zpomalovat rychlost reakce

**Fyziologická regulace metabolických drah** – schopnost měnit rychlost průběhu metabolických reakcí v dané metabolické dráze pomocí aktivace enzymů, které katalyzují její nejpomalejší článek

**Enzymy** mají tzv. allosterické aktivátory nebo inhibitory tj sloučeniny, které se váží na jiné místo v molekule enzymu než je aktivní centrum a ovlivňují tak **konformaci** molekuly enzymu

Regulace také - fosforylací nebo modulátorovými proteiny

Isoenzymy: enzymy, které mají odlišný sled aminokyselin v peptidovém řetězci, ale **katalyzují stejnou reakci**

## Reverzibilní inhibice aktivního centra

- Enzymový inhibitor je sloučenina, která snižuje rychlost reakce **vazbou na enzym**. Reverzibilní inhibitory- vazba není kovalentní, mohou se od enzymu odpoutat. Produkty - jsou reverzibilními inhibitory své vlastní reakce.

## Kompetitivní inhibice

- Reverzibilní inhibitor může soutěžit o vazbu v aktivním centru se substrátem a vytvářet s enzymem komplex, ten může disociovat na volný enzym a inhibitor

## Nekompetitivní inhibice

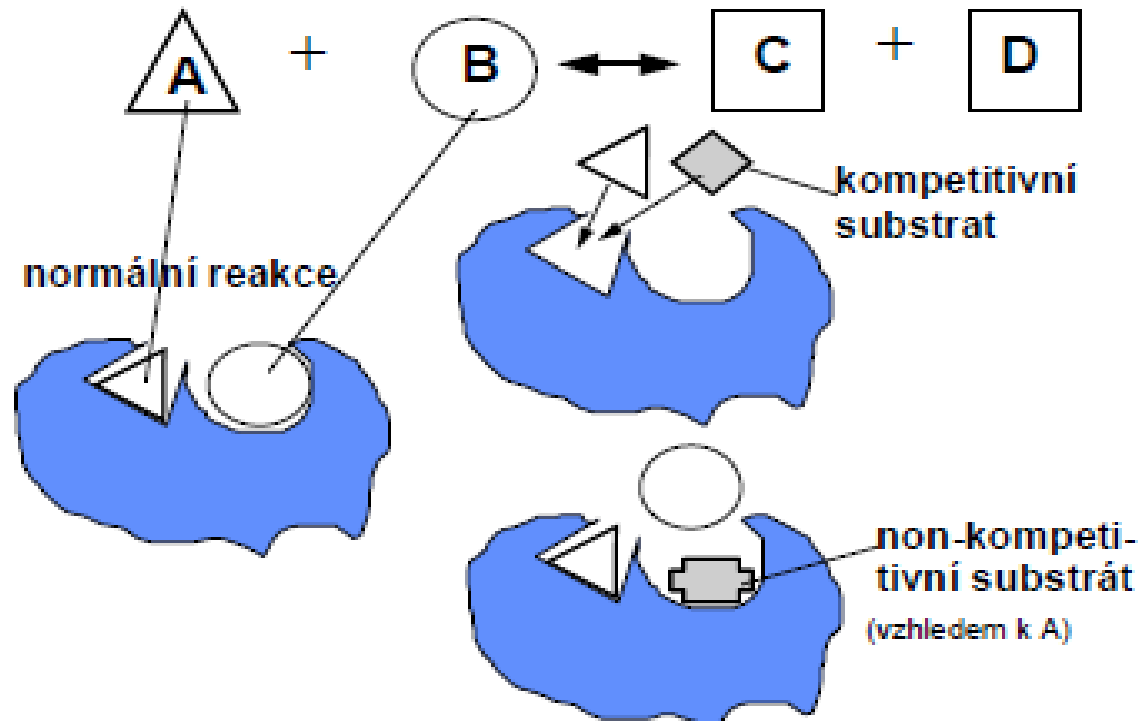
- Tento inhibitor nesoutěží o vazebné místo, ale jeho vazba na enzym snižuje koncentraci aktivního enzymu, tj. snižuje vždy  $V_{max}$

# Schéma inhibice

Při **kompetitivní inhibici** o vazebné místo pro substrát A soutěží strukturálně velmi podobný jiný substrát.

Při nekompetitivní inhibici substrát A se dostane na své vazebné místo, ale pozici na vazebném místě jeho partnera tj. substrátu B zaujímá non-kompetitivní inhibitor (vzhledem k substrátu A), který je ale kompetitivní vzhledem k B.

U **nekompetitivní inhibice** se inhibitor váže na komplex substrát-enzym.



## Nekompetitivní inhibice

- **nekompetitivní inhibitor** se váže pouze na komplex enzym–substrát (když enzym váže substráty regulovaně):
- první molekula substrátu navodí změny v konformaci molekuly enzymu, otevře se vazebné místo buď pro kosubstrát nebo pro inhibitor. Nekompetitivní inhibitor snižuje jak  $K_m$ , tak  $V_{max}$ .

## Irreverzibilní kompetitivní inhibice

- **molekuly inhibitoru** - strukturálně podobné substrátu se **vážou kovalentně** nebo tak **pevně v aktivním centru**, že z této vazby nemohou být vytěsněny. Tento způsob-častým mechanismem účinku léků nebo antimetabolitů



# Příklady irreverzibilní kompetitivní inhibice

Inhibitor	Enzym	Účinek, použití
aspirin	cyklooxygenasa	protizánětlivý efekt
allopurinol	xanthinoxidasa	léčení dny
5-fluorouracil	thymidylátsynthasa	kancerostatikum
penicilin	transpeptidasa	antibiotikum
sarin	cholinesterasa	bojový plyn
$\beta$ -aminopropionitril	lysoxidasa	abnormální sesíťování kolagenu (lathyrismus)

# Mechanismus účinku irreverzibilních inhibitorů

- **změna afinity vazebného místa** - substrátový analog má velmi reaktivní skupinu, která není v přirozeném substrátu a která **trvale blokuje aktivní centrum pro substrát** (kovalentní vazba s aminokyselinovým zbytkem)

# Příklad resistance

Indukcí  $\beta$ -laktamasy jsou takto pozměněna tzv.  $\beta$ -laktamová antibiotika :

➤ **peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy**

Obdobný účinek může mít indukce:

➤ **acetyltransferasy, fosfotransferasy nebo nukleotidyltransferasy na aminoglykosidy**

➤ **acetyltransferasa na chloramfenikol**

# Další mechanismy regulace enzymové aktivity

## Alosterické regulace

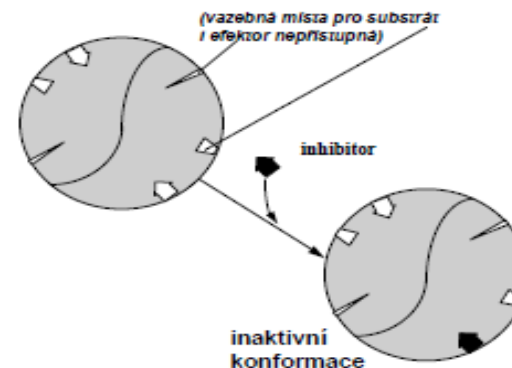
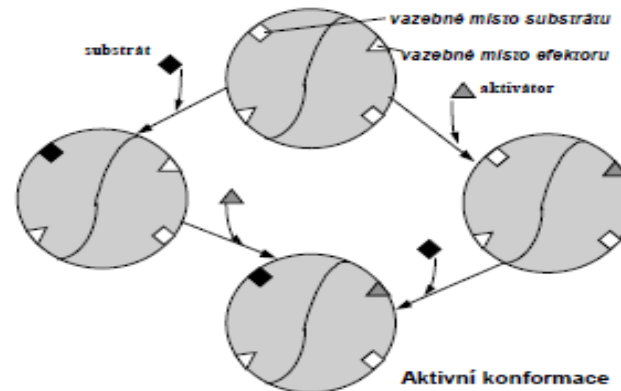
Alosterický efektor se reversibilně váže na jiné místo, než je aktivní místo enzymu.

Tato vazba navodí : konformační změnu aktivního místa,

a to tak, že buď dojde

k aktivaci enzymu

nebo jeho inhibici



## Schéma alosterické aktivace a inhibice

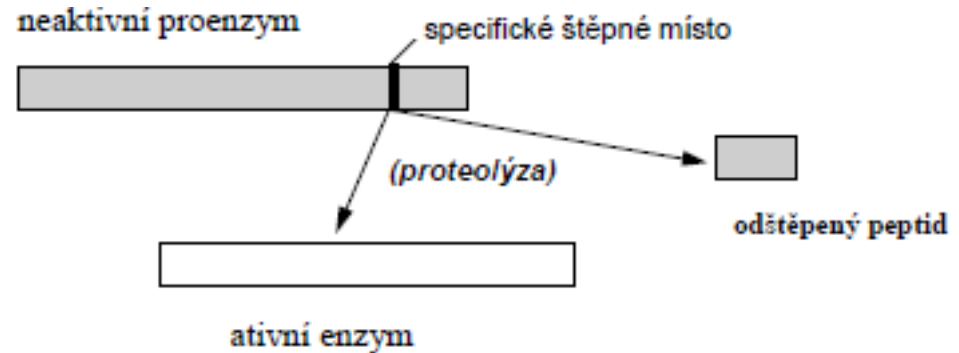
## Další mechanismy regulace enzymové aktivity

**Kovalentní modifikace** - fosforylací hydroxylové skupiny fosforylasakinasou. Fosforylace enzymu **aktivuje aktivní místo** enzymu → aktivní konformace, defosforylace → inaktivace.

**Limitovaná proteolýza** - aktivace je navozena **odštěpením krátkého peptidu** z polypeptidového řetězce, tzv. proenzymu nebo enzymogenu

✓ vede ke změně konformace aktivního místa, které může v této formě **navázat substrát**

**Příklad: chymotrypsinogen → chymotrypsin**  
**prothrombin → thrombin**



**Poznámka:** - proteolytické pankre slinivce jako prekurzory, se aktivují v lumen střeva. Jinak by natrávily vlastní tkáň pankreatu.

## ➤ Indukce syntézy enzymu

**množství enzymu** v buňce závisí na rychlosti jeho syntézy nebo degradace (trvá několik hodin až dní, předcházející způsoby regulací aktivity jsou minutové záležitosti)

## ➤ Potlačení syntézy enzymu

**Příklad:** tímto mechanismem -potlačením syntézy - působí např. omeprazol – potlačuje syntézu proteinu tzv. protonové pumpy v žaludeční sliznici, brání tak produkci HCl. Používá se proto pro snížení acidity žaludečního sekretu a tím omezení jeho agresivního účinku (léčba vředové choroby)

## ➤ Zpětnovazebná regulace

**konečný produkt** reguluje rychlost své vlastní syntézy, konečný produkt může metabolickou dráhu inhibovat nebo příbuzný metabolit může aktivovat regulační (klíčový) enzym

**Konečný produkt** může regulovat svoji vlastní syntézu - působením na gen pro transkripci klíčového enzymu metabolické dráhy - mnohem pomalejší proces než regulace allosterickým mechanismem.

# Klasifikace a názvosloví enzymů

## Třídy enzymů:

1. oxidoreduktasy
2. transferasy
3. hydrolasy
4. lyasy
5. isomerasy
6. ligasy

Koncovka názvu enzymů: substrát + -asa

Př. laktátdehydrogenasa, amylasa,  
alkoholdehydrogenasa, aspartáttransaminasa...